FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1965

THÈSE

N° 196

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Georges LEROY

Docteur Vétérinaire

Assistant de Chirurgie expérimentale à l'Ecole d'Alfort

Né le 7 Novembre 1932, à PARIS

Présentée et soutenue publiquement le 1965

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES PROPRIÉTÉS DE LA FRACTION COAGULANTE P 33 DU VENIN DE BOTHROPS JARARACA

Président : M. J. CHEYMOL, Professeur

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1965

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1965

THÈSE

N° .....

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Georges LEROY

Docteur Vétérinaire

Assistant de Chirurgie expérimentale à l'Ecole d'Alfort

Né le 7 Novembre 1932, à PARIS

Présentée et soutenue publiquement le

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES PROPRIÉTÉS DE LA FRACTION COAGULANTE P 33 DU VENIN DE BOTHROPS JARARACA

Président : M. J. CHEYMOL, Professeur

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1965

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ALAJOUANINE (T.), AUBIN (A.), BENARD (H.), BINET (L.), BULLIARD (H.), CADENAT (F.), CATHALA (J.), CHABROL (E.), CHAILLEY-BERT (P.), DEBRE (R.), FEY (B.), GAILLARD (H.), GAUDARD D'ALLAINES (F. de), GENNES (L. de), HALPHEN (E.), HAZARD (R.), HEUYER (G.), LAROCHE (G.), LAVIER (G.), LELONG (M.), LEVY-SOLAL (E.), LIAN (C.), MATHIEU (P.), MONOD (R.), MOREAU (R.), MOULONGUET (P.), MOUQUIN (M.), OLIVIER (E.), PASTEUR VALERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D.), PIEDELIEVRE (R.), QUENU (J.), RICHET (C.), SENEQUE (J.), STROHL (A.), TANON (L.), VERNE (J.).

Doyen ..... M. Gaston CORDIER.
1er Assesseur ..... M. Daniel BARGETON.
2e Assesseur ..... M. Paul CASTAIGNE.

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
— —	DOGNON (A.)
— —	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	JOANNON (P.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
— —	BRICAIRE (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	DEPARIS (M.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOUX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK LEIDEN

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.) / POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)
Pharmacologie	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	DEJOURS (P.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.) / GOUGEROT (L.)
Radiologie médicale	FISCOGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES.

a) Professeurs titulaires :

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	SOULIE (P.)

		MM.
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Pitié	CORDIER (G.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FEVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE D'AUBIGNE (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Broussais	LENEGRE (J.)
	Cochin	DROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIETY (M.)
	Lariboisière	SEZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)		DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)		MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)		JUSTIN-MESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)		DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)		DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)		GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque	LACOMME (M.)
	Foch (Suresnes)	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)		VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)		RENARD (G.)
— — (Cochin)		OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)		AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)		N...
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)		BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)		MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)		COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)		DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)		ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)		LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique		GAULTIER (M.)
Clinique urologique (Cochin)		ABOULKER (P.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique		PADOVANI (P.)
Séméiologie médicale		DOMART (A.)
Séméiologie et clinique chirurgicales		POILLEUX (F.)
Séméiologie traumatique et orthopédique		JUDET (R.)
Clinique urologique (Necker)		COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)		N...

b) Professeurs à titre personnel :

Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	LAMBLING (A.)
	LHERMITTE (F.)
	PEQUIGNOT (H.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F.)
	WORMS (R.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGREGES ET MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES

	MM.
Anatomie	CABROL (C.) COUINAUD (C.) GILLOT (C.) HUREAU (J.)
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARD (Mlle P.) pr. s. ch. ABELANET (R.) CHOMETTE (G.) GOUYGOU (Ch.), pr. s. ch. NEZELOFF (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)
Anesthésiologie	N. DU BOUCHET (Mme) KERN (E.) VOURC'H (G.)
Bactériologie	BARBIER (P.), pr. s. ch. CHRISTOL (D.) DAGUET (G.) LE MINOR (L.) TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	BEAULIEU (Et.), m. cf. BOURILLON (R.) CARTIER (P.), pr. s. ch. CORNILLOT (P.) DREYFUS (J.-Cl.) GONNARD (P.) JEROME (H.) KRUH (J.) LEGRAND (J.-Cl.) NORDMANN (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	PLAS (F.)
Biologie médicale	BENHAMOU (J.-P.) BOIVIN (P.) HARTMANN (L.), pr. s. ch.
Carcinologie	BOIRON (M.) DENOIX (P.) MATHE (G.) SELIGMANN (M.)
Cardiologie	HATT (P.-Y.)
Dermato-Syphiligraphie	CIVATTE (J.) DUPERRAT (B.) HEWITT (J.) TOURAINE (R.)
Electro-Radiologie	HEITZ (F.), m. conf. LEDOUX-LEBARD (G.)
Embryologie	ROUX (Ch.)
Hématologie	BESSIS (M.) BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.) DUYAMEL (G.)
Histologie	COUJARD (R.), pr. s. ch. DA LAGE MAROIS (M.) RACADOT (J.) SCHRAMM (B.)
Hydrologie	BESANÇON (F.) CORNET (A.)
Hygiène	BLANCHER (G.) CORRE-HURST (Mme L.) ROUSSEL (A.) SAPIN-JALOUSTRE (H.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.) LISSAC (J.) RAPIN (M.)
Maladies métaboliques	ANTOINE (B.) CROSNIER (J.) RICHET (G.) SEBAOUN (J.)
Médecine légale	BOURGUIGNON (A.) FOURNIER (E.) GUENIOT (M.) HADENGUE (A.)
Médecine du travail	ALBAHARY (B.)
Neuro-chirurgie	PERTUISET (B.)
Neuro-psychiatrie	CAMBIER (J.) CATHALA (H.) ESCOUROLLE (R.) GAUTIER (J.-Cl.) LAPRESLE (J.) LEREBOULLET (J.) PICHOT (P.) TARDIEU (G.)
Obstétrique	GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) LEVY (J.) LEWIN (D.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) SENEZE (J.) SUREAU (C.) TCHOBROUTSKY (Mme C.) THOYER-ROZAT (J.)
Ophtalmologie	AUVERT (Mme B.) BREGEAT (P.) DUBOIS (A.) FONTAINE (Mme M.) SARAUX (H.)
Orthopédie	DUPARC (J.) MAURER (P.) MEARY (R.) POSTEL (M.) RAMADIER (J.)
Oto-Rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.) PIALOUX (P.) SERGENT (H.)
Parasitologie	GOLVAN (Y.) HO THI SANG (Mlle) LAPIERRE (J.)

	MM.
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.) BINET (J.-P.) BLONDEAU (Ph.) CERBONNET (G.) CHATELIN (C.-L.) DAUTRY (P.) DEMIRLEAU DUBOST (Cl.) FAUREL (J.) FLABEAU (F.) GALEY (J.-J.) GARBAY (M.) GARNIER (H.) GAUDART-D'ALLAINES (Cl. de) GERMAIN (A.) LATASTE (J.) LOYGUE (J.) MAILLARD (J.-N.) MERCADIER (M.) NATALI (J.) PELLERIN (D.) PERROTIN (J.) PREMONT (M.) ROBERT (H.) THOMERET (G.) VAYSSE (J.)
Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.)
Pathologie expérimentale	BERTHAUX (P.) COTTENOT (Fr.) LŒPER (J.), pr. s. ch. MAURICE (J.) MIKOL (Cl.) PAUPE (J.-R.)
Pathologie médicale	ACAR (J.) AUQUIER (L.) AUSSANNAIRE (M.) BEAUMONT (J.-L.) BERNIER (J.-J.) BOUVIER (J.) BOUVRAIN (Y.) BRISSAUD (H.) BROCARD (H.) BUGE (A.) CANIVET (J.) CARLOTTI (J.) CATINAT (J.) CHRETIEN (J.) CLOAREC (M.) COBLENTZ (B.) CONTAMIN (F.) COURY (C.) DEBRAY (J.) ETIENNE (J.-P.) FREZAL (J.) FRITEL (D.) FUNCK-BRENTANO (J.-L.) GRIVAUX (M.) HAZARD (J.) HENNEQUET (A.) HIMBERT (J.) HOUSSET (E.) LAGRUE (G.) LESOBRE (R.) LEVEQUE (B.) MACREZ (C.) MOREAU (L.) NENNA (A.) NICK (J.) POULET (J.) ROYER (P.) TCHERDAKOFF (Ph.) THIBAULT (Ph.) TOURNEUR (R.) VILLIAUMEY (J.) WOLFROMM (R.)

	MM.
Pédiatrie-Puériculture	ALAGILLE (D.) ALISON (J.) CANLORBE (P.) GORIN (R.) LAFOURCADE (J.) LEPERCQ (G.) LESTRADET (H.) MALLET (R.) MANDE (R.) MINKOWSKY (A.) MOZZICONACCI (P.) POLONOVSKI (C.) REY (J.) RIBIERRE (M.) ROSSIER (A.) VIALATTE (J.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.) LECHAT (P.)
Physiologie	BARRES (G.) DURAND (J.) GIRARD (F.), m. conf. HUGELIN (A.) LAURENT (D.) SCHERRER (J.), pr. s. ch. VASSEUR (B.)
Physique médicale	CHANTEUR (J.) COURSAGET (J.) GREMY (F.), m. conf. MILHAUD (G.) PAGES (J.-Cl.) PELLERIN (P.) ROUCAYROL (J.-C.), pr. s. ch. TUBIANA (M.), m. conf.
Pneumo-phtisiologie	DECROIX (G.) ISRAEL (L.) MEYER (A.) RENAULT (P.) SORS (Ch.)
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.) DUCHE (D.) FLAVIGNY (H.)
Radiologie médicale	DUBOST (J.) LEFEBVRE (J.) MICHEL (J.-R.)
Rhumatologie	MASSIAS (P.)
Stomatologie	CAUHEPE (J.) CERNEA (P.) CHAPUT (Mme A.), m. c. agr. CREPY (Cl.) FLEURY (R.) GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.) FOUET (P.) LABET (R.) MARCHE (J.)
Urologie	AUVERT (J.) MOULONGUET (A.) QUENU (L.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE A TITRE PERMANENT

	MM.
Anatomie	DEBEYRE (J.)
Clinique chirurgicale	VERNE (J.-M.)
Clinique médicale	RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.)
Clinique obstétricale	GRASSET (J.) MAYER (M.) MORIN (P.)
Clinique ophtalmologique	DESVIGNES (P.)
Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique urologique	KUSS (R.)

IV. — PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie	MM. HAUDUROY (P.), Pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.), Pr. s. ch.

V. — CHARGES DE COURS D'HYGIENE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

MM. BOLTANSKI (E.) - LAUNAY (C.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseiller administratif	Mlle CHAINTREUIL (G.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.) LE NOIR (G.) QUIEVREUX (E.)
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.) FORGET (F.) Mlle LAURENT (H.) Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les épinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Jean CHEYMOL

Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Médecine de Paris

Membre de l'Académie de Médecine

Membre de l'Académie de Pharmacie

Officier de la Légion d'Honneur

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence du jury de notre thèse :

Hommage reconnaissant.

A NOTRE MAÎTRE, MONSIEUR LE PROFESSEUR N. MARCENAC

Professeur honoraire à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort
Directeur du Laboratoire de Chirurgie Expérimentale
Membre de l'Académie de Médecine
Membre de l'Académie de Chirurgie
Membre de l'Académie Vétérinaire
Membre de l'Académie d'Agriculture
Officier de la Légion d'Honneur

Qui nous a prodigué sans réserve, depuis bien des années, son enseignement, ses encouragements et son puissant soutien, dans le laboratoire de qui nous avons tant appris.

Bien faible hommage de respectueuse admiration et de reconnaissance.

A Monsieur le Professeur H. SIMONNET

Professeur honoraire à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort
et à l'Institut National Agronomique
Membre de l'Académie de Médecine
Membre de l'Académie Vétérinaire

Sous l'égide de qui ce travail fut entrepris, qui nous a si souvent et si libéralement accueilli dans son laboratoire.

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Agrégé A. JONDET

Sans qui ce travail n'aurait point vu le jour.

En amical hommage et en remerciement d'une longue et fructueuse collaboration.

A Monsieur le Professeur L. LEGER

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris
Chirurgien des Hôpitaux
Membre de l'Académie de Chirurgie

Qui nous a fait le grand honneur de nous appeler à participer aux recherches si passionnantes de son équipe.

En respectueux et reconnaissant hommage.

A Monsieur le Docteur J. PERROTIN

Chirurgien des Hôpitaux de Paris
Professeur Agrégé à la Faculté

Qui nous a fait le grand honneur de nous accueillir dans son service et nous a honoré de sa confiance.

Hommage respectueux.

A Monsieur le Docteur E. HOUSSET

Médecin des Hôpitaux de Paris
Professeur Agrégé à la Faculté

De qui l'appui constant et les encouragements nous ont été si précieux depuis tant d'années.

Respectueux et fidèle hommage de profonde reconnaissance.

A Monsieur le Docteur P. OURY

Ancien Chef de Clinique à la Faculté de Médecine de Paris
Médecin Chef de l'Etablissement National de Saint-Maurice
Officier de la Légion d'Honneur

Dont la paternelle bienveillance à notre égard ne s'est jamais démentie, qui nous a honoré de son soutien.

Reconnaissant hommage.

A NOTRE MAITRE

LE DOCTEUR JEAN VALLETTA

Anesthésiologiste des Hôpitaux de Paris

Dont la finesse d'esprit et la si vaste culture font l'objet de notre admiration quotidienne.

En témoignage de filial attachement.

A TOUS NOS MAITRES DE LA FACULTE

A LA MEMOIRE DE MES PARENTS

A MES GRANDS-PARENTS

MEIS et AMICIS

Ce travail est l'œuvre d'une équipe. Que tous ceux qui y ont collaboré en soient bien sincèrement remerciés.

INTRODUCTION

Comme l'écrit Carlo Mauro, les propriétés coagulantes du venin de certaines espèces de serpents ont été démontrées en 1781 déjà, grâce aux recherches de Fontana. Mais les applications thérapeutiques sont relativement récentes. Les premières tentatives faites pour traiter certaines diathèses hémorragiques ont été faites autour de l'année 1931 par Franklin et Storcton, par Mac Farlane et Barnett, par Baker et Simpson, et par plusieurs autres [16].

Nos recherches étudient l'action hémocoagulante du venin d'un serpent brésilien très répandu dans ce pays, le Bothrops Jararaca (Famille des Vipéridés, sous-famille des Crotalidés, genre Lachesis ou Bothrops).

Le Bothrops Jararaca, dont Neuweid a distingué trois variétés : le B. Megoera, le B. Furia et le B. Leucostigma, dépasse rarement 60 cm de longueur ; la circonférence dans la partie moyenne du corps est d'environ 5 cm, avec un amincissement de la région cervicale ; il est de couleur gris foncé, tacheté de noir, il a la tête triangulaire et plate ; c'est le moins dangereux de l'espèce Bothrops, parce que sa morsure n'inocule que de petites quantités de venin.

La morsure donne lieu rapidement à des phénomènes locaux : douleur irradiée le long des trajets nerveux ; œdèmes hémorragiques diffusant à distance ; la peau devient cyanotique et se recouvre de vésicules pleines de sérosités hémorragiques. Après 24 heures, le syndrome général se manifeste parfois, avec soif intense, congestion et hémorragies abondantes des muqueuses et, dans les cas graves, délirium, paralysie respiratoire, coma et mort. A l'autopsie, lorsque la mort a été rapide, on trouve le sang coagulé en masse ; au contraire, lorsque la mort n'a pas été immédiate, le sang se présente fluide et incoagulable, de couleur normale ou rouge brun, avec des notes marquées d'hémolyse.

crose plus ou moins profonde des tissus à l'endroit où le venin a été inoculé, qui est causée non seulement par l'anoxie due à l'imposante coagulation intravasculaire, mais aussi par l'action protéolytique du venin.

Les théories proposées par les auteurs pour expliquer la nature du venin ophidien sont variées. Les premiers chercheurs ont parlé des peptones-venins ayant un caractère coagulant (Fontana) [9] ou de toxi-albumines, analogues aux toxines bactériennes, dotées des propriétés neurotoxiques, hémorragipares et hémotoxiques (Calmette) [5]. Grâce aux travaux de physiologistes et immunologistes la question s'est déplacée du camp de la biologie à celui de la biochimie, ou mieux encore enzymatique, car il a été démontré que la complexité d'action du venin des serpents est due au fait qu'il n'est pas constitué par une seule substance chimique, mais par un ensemble d'enzymes ayant une fonction différente (protéolytique, coagulante, hémolytique, lipolytique). et exerçant chacune son action, et pour lesquelles l'albumine représente le vecteur commun. D'où la naissance de la spécificité et du pouvoir antigène que de certaines d'entre elles (Belfanti).

Ce complexe enzymatique agirait donc par des processus diastasiques : 1° sur les lécithines et sur les phosphatidés, au moyen de la lécithinase et de la phosphatidase ; 2° sur les protéines ; 3° sur le sang, au moyen d'enzymes coagulantes et anti-coagulantes (Fracassini) [10].

Des substances seraient encore produites par action enzymatique, comme les lysocithines de Delezenne et Forneau [6], qui sont responsables de la symptomatologie toxique. Elles seraient produites par une action de la lécitase ou lécithinase sur la lécithine, et par la transformation de cette dernière en lysocithine, par hydrolyse et par élimination d'une molécule d'acide gras non saturé (Belfanti). La lysocithine, qui a une action toxique multiple semblable à celle du venin ophidien *in vitro* et *in vivo*, agit, d'après Belfanti, comme une neurotoxine, parce qu'elle altère le système nerveux ; elle altère les endothéliums ; elle est coagulante (Brazil et Vellard) ; et surtout elle agit sur les globules rouges (hémolysine) et sur les globules blancs (leucolysine).

Lorsque l'empoisonnement n'a pas été mortel, après la régression de la symptomatologie générale, on observe une né-

*
* *

Les serpents venimeux se classent en deux grandes familles : les Vipéridés et les Colubridés. Le venin des serpents de ces deux familles, du point de vue de leur action coagulante du sang, aurait un effet antithétique, attendu que le venin des Vipéridés (à l'exclusion de l'Ancistrodon Contortrix et l'A. Piscivorus, qui sont inactifs) provoque en général la coagulation du sang même en présence d'anticoagulants (citrate-Na, fluorure-Na, oxalate-Na, hirudine), tandis que le venin de tous les Colubridés manifeste au contraire une action anticoagulante *in vivo* et *in vitro*, empêchant la coagulation du sang même avec adjonction de chlorure de calcium.

Fontana pensait que ce comportement différent était dû à la présence de peptones-venins à caractère anticoagulant, et d'albumines-venins à caractère coagulant. Calmette également admettait la présence de toxi-albumines à action coagulante et d'autres à action anticoagulante. Toutefois, sur la base des données enzymatiques modernes sur la composition du venin ophidien, on a vu que la distinction entre les venins à action coagulante et ceux à action anticoagulante est facile, en ce sens que ces propriétés se manifestent en rapport avec la quantité de ferments qui peuvent être contenus même simultanément dans le même venin. En effet, le pouvoir coagulant d'un venin est souvent masqué par la présence simultanée de protéases anticoagulantes, lesquelles, par protéolyse du fibrinogène, empêchent la coagulation.

Pour ce qui se rapporte au venin des serpents de l'espèce Bothrops, l'action coagulante est plus accentuée dans celui du Bothrops Jararaca, l'anticoagulante dans celui du B. Neuwiedii, mais Brazil et Vellard, en dissociant les différentes enzymes contenues dans le venin de ce dernier, ont mis en évidence un pouvoir coagulant qui n'avait jamais été suspecté jusque-là [4].

Les propriétés coagulantes et anticoagulantes sont donc présentes dans le même venin, elles ont une action antithéti-

que, ne présentent pas de parallélisme, sont dissociables et, suivant le titre de la dilution des deux enzymes, se rendent plus manifestes et prédominent (Vaz et Pereira) [21].

Hanut expérimenta le venin de B. Atrox et observa, en injectant 1 cc intraveineux de la solution à 1/500.000 dans le lapin, que le sang (ou le plasma) de l'animal, prélevé après 10-30', coagulait spontanément, même s'il avait été citraté, et non additionné de sels de calcium. Si, au contraire, le prélèvement était effectué après 60', le sang citraté redevenait incoagulable même avec addition de sels de calcium, par altération du fibrinogène. On passait donc d'une première phase de coagulabilité rapide et passagère à une seconde phase durable d'incoagulabilité. En injectant, intraveineux, 1 cc de venin à la dilution de 1/5.000.000, l'auteur a observé la disparition de la seconde phase négative d'incoagulabilité. Ceci explique pourquoi, dans les autopsies pratiquées sur des sujets décédés par empoisonnement bothropique, la coagulation intravasculaire et intracardiaque est plus complète lorsque l'exitus a été rapide.

Diverses hypothèses ont été avancées pour expliquer le mécanisme intime de l'action hémocoagulante du venin de Bothrops.

Nous avons mentionné l'hypothèse de Fontana, qui attribuait cette action à la présence de venins-albumines coagulant les protéines du sang, et celle de Calmette, d'après lequel la coagulation serait due à l'action des toxines, coagulants analogues aux bactéries. D'après Brazil et Vellard, le pouvoir coagulant serait dû, au contraire, à la formation de lysocithines, lesquelles ,en désagrégeant les leucocytes (leucolysines), mettraient en liberté des substances dotées d'un fort pouvoir coagulant ; cette hypothèse semble être confirmée par le fait que la présence de lécithine active et accélère la coagulation du sang, auquel on a ajouté du venin bothropique.

D'après Arthus, le venin de B. agirait comme une prothrombine qui, pour coaguler le sang, aurait besoin de substances activantes du type thrombokinase. Au contraire, d'après d'autres chercheurs (Hale et Smith), la coagulation aurait lieu par la présence d'une enzyme de type kinase qui, unie à un activant présent dans le sang, forme une substance

semblable à la thrombine, qui détermine la transformation du fibrinogène en fibrine. Cette kinase se différencierait en ceci de la thrombokinase normale, que son action se manifeste même en l'absence de sels de calcium (sang citraté ou fluoroxé).

D'après Do Amaral et Von Klobusitzky, on remarquait dans le venin du B. la présence d'une enzyme ayant une action analogue à celle du fibrinoferment, que ces auteurs ont isolé et appelé hémocoagulase, laquelle, s'additionnant à l'action du fibrinogène normalement contenu dans le sang et sans besoin de substances activantes, provoque *in vivo* et *in vitro* la coagulation du sang pur et de celui citraté et fluoruré.

Sur la base d'études récentes (Horwitt, Mannozzi-Torini), la coagulation serait due, au contraire, à l'action d'une enzyme appelée mésomucynase ou hyaluronidase, que Tarabini et Castellani auraient réussi à différencier immunologiquement dans les diverses espèces de serpents et qui, outre à agir sur l'acide hyaluronique, manifesterait son action sur l'héparine.

ETUDE TOXICOLOGIQUE

Nous avons procédé à l'étude toxicologique de la fraction P_{33} (1), répondant à la formule :

Fraction enzymatique coagulante du venin de Bothrops Jararaca	9,33 mg
Chlorure de sodium officinal	9 g
Phénol officinal	4 g
Eau bidistillée, q.s.p.	100 ml

L'expérimentation a porté sur :

— La fraction enzymatique coagulante du venin de Bothrops en poudre amorphe P_{33} ;

— Des ampoules injectables P_{33}.

Les essais suivants ont été effectués :

I. — Recherche de la toxicité aiguë chez la Souris par les voies sous-cutanée et intraveineuse.

II. — Recherche de la toxicité à long terme chez le Rat par voie sous-cutanée.

III. — Recherche de la toxicité à moyen terme et de la tolérance locale du produit dans sa présentation à usage clinique.

IV. — Recherche d'une éventuelle activité anaphylactogène.

---

(1) Nous remercions les Laboratoires Rosa-Phytopharma, de Pantin, et les Laboratoires Ravizza, de Milan, de nous avoir aimablement fourni la fraction P_{33}-bothropase nécessaire à notre expérimentation.

I. — Recherche de la toxicité aiguë

A) Voie intraveineuse

L'essai a porté sur 90 souris de 18 à 20 g de même souche. Les animaux ont reçu des doses différentes du produit préparé à partir d'une solution mère contenant 1 mg par ml de sérum physiologique. Chaque animal a reçu en 30 secondes, par injection dans les veines caudales, 0,2 ml d'une solution dont la concentration est établie en fonction de la dose à administrer.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant.

Doses en mg/kg	*Nombre d'animaux traités*	*Nombre de morts*
1,5	10	0
2	10	1
2,5	10	1
3	10	2
3,1	10	5
3,25	10	7
4	10	7
4,5	10	9
5	10	10

La mortalité est survenue dans un délai variant de une minute à 6 jours.

A la suite des injections les animaux ont présenté des alternances d'excitation et de prostration ; les animaux immédiatement survivants reprennent un habitus normal en l'espace de quelques heures. Parmi ces derniers une mortalité retardée se manifeste dans un délai de 6 jours ; au-delà la survie peut être considérée comme acquise. Les animaux restant ont été sacrifiés au 10e jour.

Le calcul de la DL_{50} a été effectué par la méthode de Behrens et Kärber en appliquant la formule :

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\Sigma\ ab}{n}$$

Les résultats se décomposent de la manière suivante :

Dose maxima tolérée : 1,5 mg/kg
Dose léthale 100 p. cent : 5 mg/kg

Dose par kg en mg	*Nombre d'animaux par lot*	*Nombre de morts*	*Ecart entre les doses (a)*	*Moyenne des morts entre 2 doses consécutives (b)*	*Produit ab*
1,5	10	0	0,5	0,5	0,25
2	10	1	0,5	0,5	0,25
2,5	10	1	0,5	1,5	0,75
3	10	2	0,1	3,5	0,35
3,1	10	5	0,15	6	0,90
3,25	10	7	0,75	7	5,25
4	10	7	0,5	8,5	4,25
4,5	10	9	0,5	9,5	4,75
5	10	10			
				Somme (Σab)	16,75

$Dl_{50} = 5 - 1,675 = 3,325$ mg

B) Voie sous-cutanée

L'essai définitif a porté sur 60 souris de 18 à 20 g. Les animaux ont reçu des doses différentes du produit préparé à partir d'une solution-mère contenant 1 mg de matière première par ml de sérum physiologique.

Chaque animal a reçu le produit dans un volume de 0,4 ml d'une solution dont la concentration est établie en fonction de la dose à administrer.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

Dose en mg/kg	*Nombre d'animaux traités*	*Nombre de morts*
5	10	0
8	10	2
12	10	3
15	10	4
20	10	7
25	10	10

La mortalité est survenue dans un délai variant de quelques heures à 6 jours.

Les animaux ont présenté, comme dans l'essai précédent, des alternances de prostration et d'excitation suivies de la reprise d'un habitus normal pour les animaux n'ayant pas succombé.

Une mortalité retardée s'installe ensuite dans un délai de 6 jours ; au-delà la survie a été considérée comme acquise et les animaux ont été sacrifiés au 10e jour.

Localement, on a constaté l'apparition d'escharres au niveau des points d'injection.

Le calcul de la DL_{50} a été effectué par la méthode de BEHRENS et KÄRBER.

Les résultats se décomposent de la manière suivante :

Dose maxima tolérée : 5 mg/kg

Dose léthale 100 p. cent : 25 mg/kg

Dose par kg en mg	*Nombre d'animaux par lot*	*Nombre de morts*	*Ecart entre les doses (a)*	*Moyenne des morts entre 2 doses consécutives (b)*	*Produit ab*
5	10	0	3	1	3
8	10	2	4	2,5	10
12	10	3	3	3,5	10,5
15	10	4	5	5,5	27,5
20	10	7	5	8,5	42,5
25	10	10			
				Somme Σab	93,5

$DL_{50} = 25 - 9{,}35 = 15{,}65$ mg/kg

II. — Recherche de la toxicité à long terme chez le rat par voie sous-cutanée

30 rats mâles d'un poids moyen de 175 ± 4,8 ont été répartis en trois groupes de 10 rats et traités pendant 92 jours.

Groupe n° 1. — Les animaux de ce groupe ont reçu le produit par voie sous-cutanée à la dose quotidienne de 18,66 µg de matière première par kg, soit le contenu de 0,2 ml par kg de la solution injectable.

Dose totale injectée par kg :

En matière première : 1,817 mg
En volume de la solution injectable : 18,4 ml.

Groupe n° 2. — Les animaux de ce groupe ont reçu le produit par voie sous-cutanée à la dose quotidienne de 3,73 µg de matière première par kg, soit le contenu de 0,04 ml de la solution injectable.

Dose totale injectée par kg :

En matière première : 0,363 mg
En volume de la solution injectable : 3,68 ml

Groupe n° 3. — Les animaux de ce groupe servent de témoins aux groupes précédents ; ils ont reçu pendant 90 jours, 0,2 ml de sérum physiologique pour 100 g de poids corporel, en injection sous-cutanée quotidienne, soit un volume identique à celui des injections reçues par les animaux des deux séries précédentes.

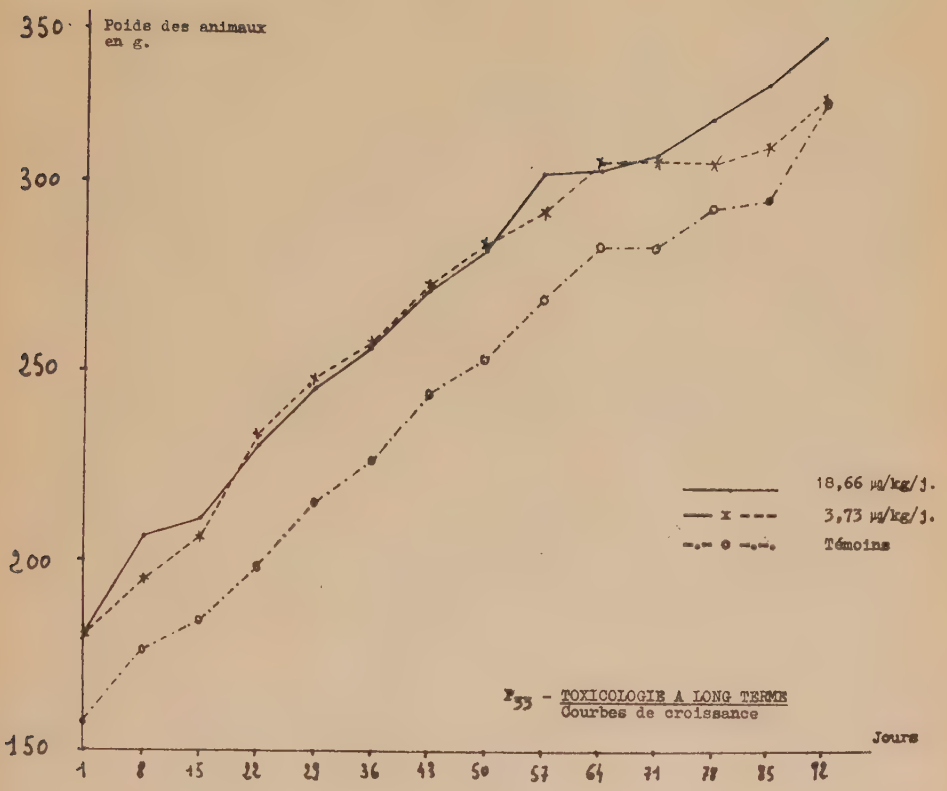
A l'exception d'un animal du groupe n° 1 et d'un animal du groupe n° 3, qui sont morts respectivement un mois et deux mois et demi après le début de l'expérience, aucun animal n'a manifesté de symptômes de toxicité, les grandes fonctions sont demeurées normales et l'appétit a été conservé.

Les tableaux suivants résument l'évolution du poids corporel des animaux de chacun des groupes, relevés à intervalle de 7 à 8 jours.

L'examen de ces tableaux et des courbes de croissance fait ressortir les points suivants :

— Les valeurs des pourcentages moyens d'accroissement font apparaître un accroissement supérieur des animaux de la série témoin.

— Cependant le parallélisme des courbes, le poids initial inférieur de la série témoin, ainsi que les poids terminaux comparables réduisent l'importance de cette différence.



F53 - TOXICOLOGIE A LONG TERME
Courbes de croissance

Groupe n° 1. — Toxicité à long terme, voie sous-cutanée

Rats mâles. 18,66 µg par kg/j./92 j. *Dose totale :* 1,817 *mg* soit 18,4 ml de la solution injectable à usage clinique

Poids corporel en grammes

Jours	1	8	15	22	29	36	43	50	57	64	71	78	85	92	*Pourcent. d'accroissement*
Animaux															
1	193	204	211	230	236	242	253	269	270	280	285	293	303	304	78,2 %
2	182	184	187	195	223	245	264	276	287	300	307	316	330	341	87,3 %
3	144	168	153	170	186	196	200	213	225	233	239	248	251	261	81,2 %
4	189	213	201	237	254	264	279	291	302	314	315	326	334	337	78,3 %
5	182	200	211	236	248	260	276	289	301	315	309	321	332	337	85,1 %
6	168	195	206	216	225	231	243	248	258	271	272	284	292	301	79,1 %
7	183	209	216	237	248	263	284	298	298	314	317	328	332	343	87,4 %
8	257	258	262	293	305	312	329	335	339	352	358	366	381	394	53,3 %
9	201	223	226	222	mort										
10	172	209	233	261	278	291	308	321	340	350	361	371	382	398	131,4 %
Moyenne	181	206	211	230	245	256	271	282	302	303	307	317	326	339	84,5 %
	± 9,5													± 1,4	± 6,8

Groupe n° 2. — Toxicité à long terme, voie sous-cutanée

Rats mâles. 3,73 µg/kg/j./92 j. *Dose totale : 0,363 mg,* soit 3,68 ml de la solution injectable à usage clinique

Poids corporel en grammes

Jours	1	8	15	22	29	36	43	50	57	64	71	78	85	92	*Pourcent. d'accroissement*
Animaux															
1	208	221	230	260	272	282	299	309	311	326	334	329	347	357	71,6 %
2	197	206	218	249	259	266	277	283	294	302	296	293	301	307	55,8 %
3	190	208	221	250	268	278	297	306	322	339	337	334	339	358	88,4 %
4	205	218	237	270	280	282	297	306	311	326	317	319	322	318	55,6 %
5	172	176	188	214	228	231	252	260	285	300	298	300	305	312	81,3 %
6	140	158	174	200	213	231	241	251	261	277	276	279	279	300	114,2 %
7	158	176	187	203	222	229	245	256	256	268	277	285	277	291	84,1 %
8	201	211	217	247	264	287	303	314	334	340	340	333	345	371	84,5 %
9	186	210	211	239	258	264	282	296	303	320	314	314	321	335	80,1 %
10	157	168	173	198	212	221	235	242	245	256	267	264	269	280	78,3 %
Moyenne	181 ± 7,4	195	206	233	248	257	272	282	292	305	306	305	310	323 ± 9,8	79,3 % ± 5,5

Groupe n° 3. — Toxicité à long terme, voie sous-cutanée

Rats mâles. *Témoins :* 0,2 ml/100 g/j./92 j. sérum physiologique

Poids corporel en grammes

Jours	1	8	15	22	29	36	43	50	57	64	71	78	85	92	*Pourcent. d'accroissement*
Animaux															
1	183	202	207	230	250	267	292	302	324	344	352	369	378	399	118 %
2	160	181	192	207	217	228	245	257	273	283	284	303	303	313	95,6 %
3	146	172	180	194	214	232	248	259	272	289	292	298	299	322	120,5 %
4	164	181	189	203	223	204	213	229	250	270	270	281	285	299	82,3 %
5	177	200	209	225	242	259	279	291	305	314	316	326	332	346	95,4 %
6	148	164	170	188	200	210	230	238	261	278	275	293	296	305	106 %
7	154	170	179	193	210	220	237	250	260	269	254	258	259	277	79,8 %
8	154	172	182	194	204	224	248	253	266	275	281	292	294	313	103,2 %
9	158	184	192	209	231	243	262	268	288	306	304	309	312	323	104,4 %
10	122	134	140	141	155	172	182	187	193	199	199	203	200	Mort	
Moyenne	157	176	184	198	215	226	244	253	269	283	283	293	296	322	100,6 %

Groupe n° 1. — *Toxicité à long terme*, voie sous-cutanée

Rats mâles. 18,66 µg/kg/j./92 j. Dose totale : 1,817 mg soit 18,4 ml de la solution injectable à usage clinique

Examens hématologiques

1er *prélèvement* 0 *j.*			2e *prélèvement* 1er *mois*			3e *prélèvement* 2e *mois*			4e *prélèvement* 3e *mois*		
Glob. rouges		9.110.000			9.520.000			9.130.000			7.480.000
Leucocytes		15.000			15.400			15.200			11.200
Neutro	11 %		Neutro	11 %		Neutro	16 %		Neutro	21 %	
Eosino	1 %	15 %	Eosino	2 %	14 %	Eosino	3 %	21 %	Eosino	3 %	28 %
Baso	3 %		Baso	1 %		Baso	2 %		Baso	4 %	
Lympho	84 %		Lympho	86 %		Lympho	77 %		Lympho	72 %	
Mono	1 %	85 %	Mono	0 %	86 %	Mono	2 %	79 %	Mono	0 %	72 %
Glob. rouges		7.235.000			7.020.000			9.840.000			10.380.000
Leucocytes		13.400			12.600			15.800			15.800
Neutro	21 %		Neutro	17 %		Neutro	22 %		Neutro	26 %	
Eosino	1 %	24 %	Eosino	1 %	21 %	Eosino	1 %	24 %	Eosino	2 %	28 %
Baso	2 %		Baso	3 %		Baso	1 %		Baso	0 %	
Lympho	74 %		Lympho	76 %		Lympho	75 %		Lympho	72 %	
Mono	2 %	76 %	Mono	3 %	79 %	Mono	1 %	76 %	Mono	0 %	72 %
Glob. rouges		6.150.000			8.720.000			9.620.000			9.320.000
Leucocytes		11.200			14.000			11.200			12.800
Neutro	28 %		Neutro	21 %		Neutro	27 %		Neutro	27 %	
Eosino	4 %	34 %	Eosino	2 %	25 %	Eosino	3 %	31 %	Eosino	2 %	30 %
Baso	2 %		Baso	2 %		Baso	1 %		Baso	1 %	
Lympho	62 %		Lympho	74 %		Lympho	67 %		Lympho	70 %	
Mono	4 %	66 %	Mono	1 %	75 %	Mono	2 %	69 %	Mono	0 %	70 %
Glob. rouges		7.190.000			9.015.000			9.050.000			9.720.000
Leucocytes		10.600			13.600			10.800			11.000
Neutro	19 %		Neutro	14 %		Neutro	22 %		Neutro	28 %	
Eosino	4 %	26 %	Eosino	7 %	26 %	Eosino	3 %	25 %	Eosino	1 %	31 %
Baso	3 %		Baso	5 %		Baso	0 %		Baso	2 %	
Lympho	70 %		Lympho	70 %		Lympho	73 %		Lympho	67 %	
Mono	4 %	74 %	Mono	4 %	74 %	Mono	2 %	75 %	Mono	2 %	69 %

Groupe n° 2. — Toxicité à long terme, voie sous-cutanée

Rats mâles 3,73 µg/kg/j./92 j. Dose totale : 0,363 mg soit 3,68 ml de la solution injectable à usage clinique

Examens hématologiques

1er *prélèvement* 0 *j.*			2e *prélèvement* 1er *mois*			3e *prélèvement* 2e *mois*			4e *prélèvement* 3e *mois*		
Glob. rouges		7.040.000			6.190.000			9.120.000			9.000.000
Leucocytes		11.000			11.000			17.400			16.000
Neutro	30 %		Neutro	22 %		Neutro	31 %		Neutro	30 %	
Eosino	2 %	34 %	Eosino	1 %	26 %	Eosino	2 %	36 %	Eosino	3 %	37 %
Baso	2 %		Baso	3 %		Baso	3 %		Baso	4 %	
Lympho	64 %		Lympho	73 %		Lympho	62 %		Lympho		
Mono	2 %	66 %	Mono	1 %	74 %	Mono	2 %	64 %	Mono		63 %
Glob. rouges		7.565.000			8.215.000			9.970.000			7.420.000
Leucocytes		12.600			12.800			12.800			10.000
Neutro	31 %		Neutro	21 %		Neutro	25 %		Neutro	30 %	
Eosino	2 %	35 %	Eosino	2 %	25 %	Eosino	2 %	30 %	Eosino	1 %	32 %
Baso	2 %		Baso	2 %		Baso	3 %		Baso	1 %	
Lympho	60 %		Lympho	75 %		Lympho	66 %		Lympho	67 %	
Mono	5 %	65 %	Mono	0 %	75 %	Mono	4 %	70 %	Mono	1 %	68 %
Glob. rouges		8.280.000			8.725.000			9.420.000			10.480.000
Leucocytes		10.200			11.200			16.200			10.000
Neutro	20 %		Neutro	19 %		Neutro	21 %		Neutro	26 %	
Eosino	3 %	29 %	Eosino	1 %	22 %	Eosino	1 %	26 %	Eosino	4 %	35 %
Baso	6 %		Baso	2 %		Baso	4 %		Baso	5 %	
Lympho	71 %		Lympho	77 %		Lympho	73 %		Lympho	64 %	
Mono	0 %	71 %	Mono	1 %	78 %	Mono	1 %	74 %	Mono	1 %	65 %
Glob. rouges		6.500.000			8.280.000			10.190.000			9.300.000
Leucocytes		8.000			10.000			15.000			12.400
Neutro	18 %		Neutro	18 %		Neutro	26 %		Neutro	22 %	
Eosino	4 %	23 %	Eosino	6 %	29 %	Eosino	3 %	33 %	Eosino	5 %	31 %
Baso	1 %		Baso	5 %		Baso	4 %		Baso	4 %	
Lympho	77 %		Lympho	68 %		Lympho	65 %		Lympho	68 %	
Mono	0 %	77 %	Mono	3 %	71 %	Mono	3 %	68 %	Mono	1 %	69 %

Groupe n° 3. — Toxicité à long terme, voie sous-cutanée
Rats mâles. *Témoins :* 0,2 ml/100 g/j./92 j., sérum physiologique
Examens hématologiques

1er *prélèvement* 0 *j.*			2e *prélèvement* 1er *mois*			3e *prélèvement* 2e *mois*			4e *prélèvement* 3e *mois*		
Glob. rouges		7.730.000			8.600.000			7.880.000			8.430.000
Leucocytes		13.400			14.600			13.000			14.400
Neutro	11 %		Neutro	6 %		Neutro	14 %		Neutro	15 %	
Eosino	2 %	18 %	Eosino	0 %	9 %	Eosino	2 %	20 %	Eosino	4 %	24 %
Baso	5 %		Baso	3 %		Baso	4 %		Baso	5 %	
Lympho	82 %		Lympho	89 %		Lympho	78 %		Lympho	75 %	
Mono	0 %	82 %	Mono	2 %	91 %	Mono	2 %	80 %	Mono	1 %	76 %
Glob. rouges		7.255.000			10.060.000			9.670.000			9.800.000
Leucocytes		12.200			11.400			14.600			14.600
Neutro	28 %		Neutro	26 %		Neutro	27 %		Neutro	24 %	
Eosino	0 %	30 %	Eosino	0 %	30 %	Eosino	1 %	29 %	Eosino	3 %	30 %
Baso	2 %		Baso	4 %		Baso	1 %		Baso	3 %	
Lympho	69 %		Lympho	68 %		Lympho	70 %		Lympho	69 %	
Mono	1 %	70 %	Mono	2 %	70 %	Mono	1 %	71 %	Mono	1 %	70 %
Glob. rouges		7.840.000			10.285.000			9.740.000			8.840.000
Leucocytes		14.400			16.200			18.600			16.600
Neutro	14 %		Neutro	15 %		Neutro	18 %		Neutro	16 %	
Eosino	4 %	21 %	Eosino	0 %	17 %	Eosino	2 %	22 %	Eosino	6 %	26 %
Baso	3 %		Baso	2 %		Baso	2 %		Baso	4 %	
Lympho	73 %		Lympho	82 %		Lympho	76 %		Lympho	73 %	
Mono	6 %	79 %	Mono	1 %	83 %	Mono	2 %	78 %	Mono	1 %	74 %

Groupe n° 3, — Toxicité à long terme, voie sous-cutanée

Rats mâles. *Témoins :* 0,2 ml/100 g/j./92 j., sérum physiologique

Examens hématologiques

1er *prélèvement* 0 *j.*			2e *prélèvement* 1er *mois*			3e *prélèvement* 2e *mois*			4e *prélèvement* 3e *mois*		
Glob. rouges		8.780.000			7.070.000			9.970.000			8.610.000
Leucocytes		9.400			16.600			13.200			10.400
Neutro	33 %		Neutro	26 %		Neutro	21 %		Neutro	23 %	
Eosino	4 %	37 %	Eosino	3 %	32 %	Eosino	1 %	26 %	Eosino	2 %	25 %
Baso	0 %		Baso	3 %		Baso	4 %		Baso	0 %	
Lympho	61 %		Lympho	68 %		Lympho	72 %		Lympho	74 %	
Mono	2 %	63 %	Mono	0 %	68 %	Mono	2 %	74 %	Mono	1 %	75 %
Glob. rouges		7.995.000			7.930.000			8.900.000			9.150.000
Leucocytes		12.000			14.800			13.400			14.200
Neutro	30 %		Neutro	23 %		Neutro	26 %		Neutro	27 %	
Eosino	5 %	37 %	Eosino	2 %	29 %	Eosino	3 %	32 %	Eosino	4 %	33 %
Baso	2 %		Baso	4 %		Baso	3 %		Baso	2 %	
Lympho	60 %		Lympho	70 %		Lympho	67 %		Lympho	65 %	
Mono	3 %	63 %	Mono	2 %	71 %	Mono	1 %	68 %	Mono	2 %	67 %

Quatre animaux de chacun des deux premiers groupes et cinq animaux du groupe témoin ont subi un examen hématologique mensuel comportant la numération des hématies, la numération et la formule leucocytaire.

Les résultats de ces examens sont consignés dans les tableaux ci-contre,

L'examen de ces résultats ne fait pas ressortir de variations systématiques imputables à l'action du produit qui peut être considéré comme ne modifiant pas ni le nombre ni la distribution des cellules sanguines.

A l'issue de l'expérience, les animaux ont été sacrifiés et l'examen nécropsique a été pratiqué. Il n'a pas été remarqué de lésions macroscopiques à l'exception de plages de colorations grisâtres à la surface des reins des animaux du groupe n° 1.

Des prélèvements portant sur le foie, les reins, la rate, les surrénales de six animaux ont été effectués et confiés au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (Professeur H. Drieux) pour examen microscopique.

Cet examen a permis les conclusions suivantes :

Examen du tissu hépatique

L'un des animaux témoins présente un épaississement des parois vasculaires et de la capsule de Glisson et quelques cellules en voie de dégénérescence.

Aspect normal chez les animaux traités.

Examen du rein

Chez les témoins quelques images de dégénérescence épithéliale.

L'aspect observé chez les animaux traités est normal à l'exception d'un animal (faible dose) qui présente une rétraction légère du bouquet vasculaire au niveau de quelques glomérules de Malpighi avec dépôt albumineux.

Examen de la rate

Aspect de réticulose chez les animaux témoins et les animaux traités.

Examen de la surrénale

Aspect normal chez les animaux témoins.

Chez les animaux traités, un prélèvement présentait de petits foyers de dégénérescence en région corticale sous-glomérulaire. Un autre prélèvement présentait un petit foyer de nécrose avec des travées de cellules à cytoplasme éosinophile faisant suite à la zone des arcs.

Examen du testicule

Aspect normal chez les animaux témoins.

L'un des animaux traités présente quelques très rares cellules binucléées et pycnotiques.

En conclusion, l'administration à long terme, chez le rat, mâle, du produit, par voie sous-cutanée, aux doses quotidiennes de 18,66 µg et 0,373 µ/kg n'entraîne ni l'apparition de signes de toxicité ni l'installation de lésions histologiques retrouvées uniquement chez les animaux traités hormis des lésions des surrénales dont le caractère spécifique est douteux, sur 2 sujets.

III. — Recherche de la toxicité à moyen terme et de la tolérance locale du produit dans sa forme pharmaceutique injectable pour usage clinique

Trois groupes de 5 Lapins ont été utilisés pour cet essai.

Les animaux du *groupe n°* 1 ont reçu 0,1 ml par kg de la solution à usage clinique du produit, chaque jour, pendant 20 jours, par voie intramusculaire dans les muscles lombaires.

Les animaux du *groupe n°* 2 ont reçu 0,04 ml par kg de la solution à usage clinique du produit chaque jour, pendant 20 jours, par voie intramusculaire dans les muscles lombaires.

Les animaux du *groupe n°* 3, servant de témoins aux groupes précédents, ont reçu 0,5 ml par kg et par jour de sérum physiologique dans les muscles lombaires pendant la même durée.

Tous ces animaux se sont comportés normalement au cours de l'essai ; aucun symptôme de toxicité ne s'est manifesté ; les grandes fonctions sont restées normales.

Le premier, le dixième et le dernier jours de l'expérience, un examen hématologique a été pratiqué, portant sur la numération des hématies, la numération et la forme leucocytaire.

Les résultats des examens hématologiques, ainsi que les poids initial et final de chaque animal sont consignés dans les tableaux suivants.

L'examen de ces tableaux ne fait pas ressortir de variations systématiques par rapport aux témoins en ce qui concerne le nombre et la distribution des cellules des lignées sanguines, imputables à l'action du produit utilisé sous sa forme à usage clinique.

En ce qui concerne la croissance pondérale, les animaux recevant la dose la plus forte du produit manifestent un léger retard de croissance.

Groupe n° 1. — Toxicité à moyen terme chez le lapin

Injection intramusculaire quotidienne : 0,1 ml par kg de la solution à usage clinique. Durée : 20 jours

N° des animaux	*Poids initial kg*	*Poids final kg*	1er *prélèvement jour : 0*			2e *prélèvement jour : 10e*			3e *prélèvement jour : 20e*		
9/62	1.650	2,140	*Hématies*		7.110.000			6.880.000			6.850.000
			Leucocytes		9.800			8.800			8.000
			Neutro	47 %		Neutro	46 %		Neutro	47 %	
			Eosino	8 %	59 %	Eosino	8 %	60 %	Eosino	8 %	58 %
			Baso	4 %		Baso	6 %		Baso	3 %	
			Lympho	38 %		Lympho	37 %		Lympho	39 %	
			Mono	3 %	41 %	Mono	3 %	40 %	Mono	3 %	42 %
9/61	1,930	2,330	*Hématies*		5.760.000			6.010.000			6.450.000
			Leucocytes		10.600			11.200			11.400
			Neutro	42 %		Neutro	42 %		Neutro	42 %	
			Eosino	9 %	56 %	Eosino	9 %	57 %	Eosino	7 %	54 %
			Baso	5 %		Baso	6 %		Baso	5 %	
			Lympho	37 %		Lympho	35 %		Lympho	36 %	
			Mono	7 %	44 %	Mono	8 %	43 %	Mono	9 %	45 %
9/58	1,860	2,320	*Hématies*		5.850.000			5.770.000			6.040.000
			Leucocytes		8.600			7.400			8.200
			Neutro	41 %		Neutro	40 %		Neutro	41 %	
			Eosino	14 %	60 %	Eosino	18 %	63 %	Eosino	11 %	% 9ç
			Baso	5 %		Baso	5 %		Baso	4 %	
			Lympho	36 %		Lympho	32 %		Lympho	40 %	
			Moro	4 %	40 %	Mono	5 %	37 %	Mono	4 %	44 %

Groupe n° 1. — Toxicité à moyen terme chez le lapin

Injection intramusculaire quotidienne : 0,1 ml par kg de la solution à usage clinique. Durée : 20 jours

N° des animaux	*Poids initial kg*	*Poids final kg*	1er *prélèvement jour : 0*			2e *prélèvement jour : 10e*			3e *prélèvement jour : 20e*		
9/63	1,600	2,250	*Hématies*		6.230.000			7.300.000			7.220.000
			Leucocytes		7.600			7.800			7.800
			Neutro	49 %		Neutro	50 %		Neutro	47 %	
			Eosino	7 %	58 %	Eosino	6 %	58 %	Eosino	8 %	58 %
			Baso	2 %		Baso	2 %		Baso	3 %	
			Lympho	40 %		Lympho	40 %		Lympho	39 %	
			Mono	2 %	42 %	Mono	2 %	42 %	Mono	3 %	42 %
9/74	1,365	1,640	*Hématies*		7.120.000			6.080.000			6.920.000
			Leucocytes		11.400			10.000			10.200
			Neutro	45 %		Neutro	43 %		Neutro	44 %	
			Eosino	8 %	58 %	Eosino	9 %	56 %	Eosino	8 %	56 %
			Baso	5 %		Baso	4 %		Baso	4 %	
			Lympho	37 %		Lympho	40 %		Lympho	40 %	
			Mono	5 %	42 %	Mono	4 %	44 %	Mono	4 %	44 %

Groupe n° 2. — Toxicité à moyen terme chez le lapin

Injection intramusculaire quotidienne : 0,04 ml de la solution à usage clinique. Durée : 20 jours

N° des animaux	*Poids initial kg*	*Poids final kg*	1er *prélèvement jour : 0*			2e *prélèvement jour : 10e*			3e *prélèvement jour : 20e*		
9/84	1,570	2,180	*Hématies*		7.220.000			6.840.000			6.860.000
			Leucocytes		9.800			8.600			9.200
			Neutro	48 %		Neutro	47 %		Neutro	46 %	
			Eosino	5 %	55 %	Eosino	4 %	54 %	Eosino	4 %	52 %
			Baso	2 %		Baso	3 %		Baso	2 %	
			Lympho	41 %		Lympho	42 %		Lympho	43 %	
			Mono	4 %	45 %	Mono	4 %	46 %	Mono	5 %	48 %
9/87	1,880	2,580	*Hématies*		6.720.000			7.300.000			7.120.000
			Leucocytes		10.400			10.600			9.800
			Neutro	48 %		Neutro	44 %		Neutro	49 %	
			Eosino	3 %	56 %	Eosino	3 %	52 %	Eosino	4 %	57 %
			Baso	5 %		Baso	5 %		Baso	4 %	
			Lympho	38 %		Lympho	43 %		Lympho	37 %	
			Mono	6 %	44 %	Mono	5 %	48 %	Mono	6 %	43 %
9/85	1,710	2,620	*Hématies*		6.420.000			6.820.000			6.580.000
			Leucocytes		9.200			9.200			9.600
			Neutro	47 %		Neutro	48 %		Neutro	46 %	
			Eosino	6 %	57 %	Eosino	5 %	57 %	Eosino	3 %	54 %
			Baso	4 %		Baso	4 %		Baso	5 %	
			Lympho	40 %		Lympho	39 %		Lympho	43 %	
			Mono	3 %	43 %	Mono	4 %	43 %	Mono	3 %	46 %

Groupe n° 2 (suite)

N° des animaux	Poids initial kg	Poids final kg	1er prélèvement jour : 0			2e prélèvement jour : 10			3e prélèvement jour : 20		
9/86	1.460	1,870	*Hématies*		7.020.000			6.830.000			7.040.000
			Leucocytes		9.800			9.600			10.200
			Neutro	48 %		Neutro	47 %		Neutro	51 %	
			Eosino	6 %	56 %	Eosino	6 %	56 %	Eosino	4 %	58 %
			Baso	2 %		Baso	3 %		Baso	3 %	
			Lympho	38 %		Lympho	37 %		Lympho	36 %	
			Mono	6 %	44 %	Mono	7 %	44 %	Mono	6 %	42 %
9/88	1,580	2,270	*Hématies*		5.840.000			5.810.000			5.920.000
			Leucocytes		8.800			8.600			9.000
			Neutro	46 %		Neutro	45 %		Neutro	49 %	
			Eosino	3 %	53 %	Eosino	3 %	53 %	Eosino	2 %	54 %
			Baso	4 %		Baso	5 %		Baso	4 %	
			Lympho	41 %		Lympho	41 %		Lympho	40 %	
			Mono	6 %	47 %	Mono	6 %	47 %	Mono	6 %	46 %

Groupe n° 3. — Toxicité à moyen terme chez le lapin

Témoins. Sérum physiologique, voie intramusculaire : 0,5 ml/kg/j.

N° des animaux	*Poids initial kg*	*Poids final kg*	1er *prélèvement jour : 0*			2e *prélèvement jour : 10e*			3e *prélèvement jour : 20e*		
9/73	2,170	2,550	*Hématies*		5.930.000			5.180.000			6.220.000
			Leucocytes		10.200			10.600			10.800
			Neutro	45 %		Neutro	43 %		Neutro	47 %	
			Eosino	3 %	52 %	Eosino	5 %	53 %	Eosino	3 %	53 %
			Baso	4 %		Baso	5 %		Baso	3 %	
			Lympho	43 %		Lympho	41 %		Lympho	43 %	
			Mono	5 %	48 %	Mono	6 %	47 %	Mono	4 %	47 %
9/72	1,680	2,780	*Hématies*		6.680.000			6.440.000			6.730.000
			Leucocytes		9.400			9.400			9.600
			Neutro	43 %		Neutro	47 %		Neutro	45 %	
			Eosino	4 %	52 %	Eosino	4 %	54 %	Eosino	4 %	53 %
			Baso	5 %		Baso	5 %		Baso	4 %	
			Lympho	42 %		Lympho	40 %		Lympho	41 %	
			Mono	6 %	48 %	Mono	6 %	46 %	Mono	6 %	47 %
9/64	1,450	2,000	*Hématies*		6.370.000			6.080.000			6.430.000
			Leucocytes		9.200			9.000			9.600
			Neutro	48 %		Neutro	49 %		Neutro	47 %	
			Eosino	4 %	54 %	Eosino	4 %	55 %	Eosino	4 %	54 %
			Baso	2 %		Baso	2 %		Baso	2 %	
			Lympho	43 %		Lympho	42 %		Lympho	41 %	
			Mono	3 %	46 %	Mono	3 %	45 %	Mono	5 %	46 %

Groupe n° 3 (suite)

N° des animaux	Poids initial kg	Poids final kg	1er prélèvement jour : 0			2e prélèvement jour : 10			3e prélèvement jour : 20		
9/71	1,560	2,350	*Hématies*		7.260.000			6.830.000			6.580.000
			Leucocytes		10.200			9.200			10.000
			Neutro	43 %		Neutro	46 %		Neutro	37 %	
			Eosino	6 %	55 %	Eosino	5 %	57 %	Eosino	4 %	48 %
			Baso	6 %		Baso	6 %		Baso	7 %	
			Lympho	42 %		Lympho	40 %		Lympho	49 %	
			Mono	3 %	45 %	Mono	3 %	43 %	Mono	3 %	52 %
9/83	1,170	1,950	*Hématies*		5.980.000			5.880.000			5.980.000
			Leucocytes		9.200			9.200			9.600
			Neutro	41 %		Neutro	42 %		Neutro	43 %	
			Eosino	8 %	55 %	Eosino	7 %	56 %	Eosino	9 %	56 %
			Baso	6 %		Baso	7 %		Baso	4 %	
			Lympho	39 %		Lympho	37 %		Lympho	38 %	
			Mono	6 %	45 %	Mono	6 %	44 %	Mono	6 %	44 %

A l'issue de l'expérience, les animaux ont été sacrifiés et l'examen nécropsique a été pratiqué. Aucune lésion organique n'a été constatée, hormis quelques lésions de microabcédation hépatique, sans rapport direct avec l'administration du produit.

Les muscles lombaires ont été examinés en coupes macroscopiques sériées. Cet examen a permis de conclure à la bonne tolérance locale du produit, administré par voie intramusculaire.

IV. — Recherche d'une éventuelle activité anaphylactogène

En raison de l'origine extractive du produit et de sa nature enzymatique nous avons recherché s'il était susceptible de donner lieu à des accidents d'ordre anaphylactique.

Six cobayes ont été utilisés pour cet essai. Ils ont reçu par kg : 0,5 ml de la solution à usage clinique de P_{33}, par voie intrapéritonéale, trois fois à 48 heures d'intervalle.

Vingt-cinq jours après les injections sensibilisantes, les animaux ont été séparés en deux groupes :

Le premier groupe de 3 cobayes a été utilisé pour la recherche de l'anaphylaxie locale, selon Schultz-Dale.

L'iléon a été prélevé et maintenu en survie dans une cuve à organe isolé. L'adjonction de 0,1 ml de la solution de P_{33} au bain de 10 ml de tyrode, soit à une concentration proche de 1/10.000 du produit de base, n'a pas déclenché de contraction de l'iléon isolé.

Les animaux du deuxième groupe servant à déceler une éventuelle réaction anaphylactique générale ont reçu, au titre d'injection déchaînante, 0,2 ml de la solution à usage clinique de P_{33}, par voie veineuse. Cette injection n'a été suivie d'aucune réaction d'ordre anaphylactique.

Le produit apparaît donc comme dépourvu d'activité anaphylactogène.

ETUDE PHARMACODYNAMIQUE

Nous avons procédé à l'étude pharmacodynamique d'une solution de P_{33}, répondant à la formule :

Fraction enzymatique coagulante du venin de Bothrops Jararaca	9,33	mg
Chlorure de sodium officinal	9	g
Phénol officinal	4	g
Eau distillée, q.s.p.	100	ml

Les essais suivants ont été réalisés :

I. — *Recherche de l'activité coagulante in vitro* sur le sang de Cheval, oxalaté, par le test de Klobusitzki (1) et sur le plasma de Cheval, oxalaté, par détermination des concentrations minima coagulantes.

II. — *Recherche du temps de coagulation du sang total* chez le Rat et le Lapin.

III. — *Détermination du temps de saignement :*

— après section de la queue chez la Souris,
— après scarification des oreilles chez le Cobaye.

IV. — *Appréciation du taux de prothrombine* par la détermination du temps de Quick chez le Chien.

V. — *Recherche des actions secondaires d'ordre fonctionnel* chez le Chien par enregistrement :

— de la pression artérielle au kymographe de Ludwig ;
— de la respiration par pneumographie externe ;
— de la vasomotricité rénale par oncographie ;
— du débit urinaire par rhéographie ;
— de la motricité intestinale.

---

(1) D. Von Klobusitzki. Arch. Exper. Path. Pharmakol. ; Bd 213, 1951, 361.

L'ensemble de ces essais a été réalisé en utilisant les ampoules injectables P_{33}.

I. — Recherche de l'activité coagulante in vitro

A) Sur le sang total oxalaté de Cheval

(*Temps de coagulation* in vitro *par le test de Klobusitzki*)

Du sang de Cheval prélevé à la veine jugulaire en flacon siliconé, contenant 10 ml pour 100 ml d'une solution d'oxalate de soude à 3 %, a été réparti dans 35 tubes à hémolyse siliconés à raison de 5 ml dans chaque tube.

Trois groupes de dix tubes ont été additionnés respectivement de 0,25 ml, 0,50 ml et 1 ml de la solution injectable du produit P_{33}.

Cinq tubes ont été gardés comme témoins, et n'ont pas présenté de coagulation dans les 24 heures. L'expérience s'est déroulée à la température de 22 degrés centigrades.

Toutes les 15 secondes les tubes sont inclinés à 45° jusqu'à constitution d'un coagulum consistant.

Les temps de coagulation ont été les suivants :

Tubes additionnés de 0,25 *ml*

N° des tubes	*Temps de coagulation*	
	en minutes	*en secondes*
1	10 45	645
2	8 45	525
3	9 30	570
4	10 15	615
5	9 15	555
6	10 30	630
7	8 30	510
8	8 45	525
9	10	600
10	9 30	570
Moyenne		575 ± 14,8

Tubes additionnés de 0,5 ml

N° des tubes	*Temps de coagulation*	
	en minutes	*en secondes*
1	5	300
2	6	360
3	6 15	375
4	7 45	465
5	5	300
6	6 30	390
7	7 15	435
8	6 30	390
9	6	360
10	7 30	450
Moyenne		383 ± 17,9

Tubes additionnés de 1 ml

N° des tubes	*Temps de coagulation*	
	en minutes	*en secondes*
1	2 45	165
2	3 30	210
3	3 45	225
4	4	240
5	4 30	270
6	3 15	195
7	3 30	210
8	4 15	255
9	5	300
10	3	180
Moyenne		225 ± 13,2

Action coagulante in vitro sur le sang total oxalaté

TABLEAU RÉCAPITULATIF

Volume de solution ajoutés à 5 ml de sang	*Temps de coagulation en secondes*
0,25 ml	575 ± 14,8
0,50 ml	383 ± 17,9
1 ml	225 ± 13,2

L'examen de ces résultats permet de conclure à l'action coagulante du produit sur le sang total, le temps nécessaire pour obtenir la coagulation est inversement proportionnel aux logarithmes des concentrations du produit.

B) Sur le plasma oxalaté de Cheval

Par détermination des concentrations minima coagulantes.

Protocole de détermination.

Introduire dans 7 tubes à hémolyse les volumes suivants de solution à titrer (renfermant 0,33 mg de matière première pour 100 ml) :

0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009 ml.

Ajouter dans chaque tube 1 ml de plasma oxalaté ; agiter une seule fois chaque tube par retournement. Préparer un huitième tube renfermant seulement 1 ml de plasma oxalaté (Témoin à blanc), Porter les tubes à l'étuve à 37° pendant une heure et procéder à la lecture.

On considère comme pouvoir coagulant le plus faible volume de solution de venin capable de coaguler 1 ml de plasma en formant un coagulum consistant qui ne se détache pas des parois du tube.

La détermination effectuée établit l'activité coagulante *in vitro* du produit entre les limites de 0,004 à 0,008 ml correspondant aux concentrations de 0,4 % à 0,8 %.

II. — Recherche du temps de coagulation du sang

des animaux ayant reçu préalablement le produit P_{33}.

A) Chez le Rat

Quatre groupes de 10 Rats, d'un poids moyen de 246 ± 7 g, ont servi à la détermination du temps de coagulation *in vivo*.

La *technique suivante* a été adoptée :

Le sang a été prélevé par section de l'extrémité de la queue, la deuxième goutte étant recueillie sur des lames de verre parfaitement propres et sèches. Un vaccinostyle est plongé dans la goutte et rapidement retiré toutes les 15 secondes. Le temps de coagulation est noté à l'apparition du premier filament de fibrine adhérent au vaccinostyle.

L'expérience s'est effectuée à la température du laboratoire, soit 21°C.

Le *groupe n°* 1 a servi à la détermination du temps moyen de coagulation pour l'ensemble des animaux mis en expérience.

Les animaux des trois autres groupes ont reçu 2 ml par kg de la solution à usage clinique du « P_{33} », par voie intrapéritonéale.

Les déterminations du temps de coagulation ont été effectuées :

pour le *groupe n°* 2, 30 minutes après l'administration,

pour le *groupe n°* 3, 2 heures après l'administration,

pour le *groupe n°* 4, 6 heures après l'administration.

Les résultats sont rapportés dans les tableaux suivants :

Groupe n° 1. — Témoins

N° des animaux	*Temps de coagulation*	
	en minutes	*en secondes*
1	2 30	150
2	2 45	165
3	2 45	165
4	2	120
5	2 30	150
6	2 45	165
7	3 30	210
8	2 30	150
9	2 15	135
10	2 30	150
Moyenne		156 ± 8

Groupe n° 2. — Solution à usage clinique
Voie intrapéritonéale : 2 ml/kg

Temps de coagulation après 30 minutes

N° des animaux	*Temps de coagulation*	
	en minutes	*en secondes*
11	1 45	105
12	2 45	165
13	4	240
14	2 45	165
15	1 30	90
16	4	240
17	2 30	150
18	2 30	150
19	4	240
20	3 45	195
Moyenne		174 ± 18

Groupe n° 3. — Solution à usage clinique
Voie intrapéritonéale : 2 ml/kg

Temps de coagulation après 2 heures

N° des animaux	*Temps de coagulation*	
	en minutes	*en secondes*
21	2	120
22	2 45	165
23	2 30	150
24	1	60
25	2 45	165
26	2 15	135
27	1 45	95
28	1	60
29	2 15	135
30	2 30	150
Moyenne		124 ± 13

Groupe n° 4. — Solution à usage clinique
Voie intrapéritonéale : 2 ml/kg

Temps de coagulation après 6 heures

N° des animaux	*Temps de coagulation*	
	en minutes	*en secondes*
31	1 45	105
32	2	120
33	1 30	90
34	1	60
35	1 45	105
36	2 15	135
37	1 45	105
38	2	120
39	3	180
40	1 45	105
Moyenne		113 ± 10

L'examen de ces résultats permet de conclure à un abaissement du temps de coagulation chez le Rat recevant une dose de 2 ml par kg de la solution de « P_{33} », à usage clinique, par voie intrapéritonéale.

Cette action coagulante s'installe avec un temps de latence d'au moins 30 minutes et persiste au-delà de 6 heures.

B) Chez le Lapin

La détermination du temps de coagulation a porté sur du sang total, prélevé à la veine jugulaire à l'aide d'aiguilles paraffinées et recueilli dans des tubes à hémolyse, soigneusement lavés, rincés à l'alcool-éther, portés au rouge et refroidis avant l'utilisation. La détermination a été faite au bain-marie à 38°.

Le sang a été prélevé sur un groupe de 16 Lapins Fauve de Bourgogne, pesant de 800 à 1.100 g.

Sur ces animaux, une première détermination a été effectuée, puis 10 Lapins ont reçu par voie veineuse le produit à raison de 0,50 ml par kg de la solution à usage clinique. Dans un délai de 1 heure 30 minutes, une seconde détermination du temps de coagulation a été effectuée sur l'ensemble du groupe.

Les résultats sont consignés dans les tableaux suivants.

Groupe Témoins

Temps de coagulation du sang total *in vitro*

N° des animaux	*Temps de coagulation initial en secondes*	*Temps de coagulation dans un délai de 1 h. 30 min.*	*Pourcentage de variation*
1	246	149	— 39 %
2	183	138	— 24 %
3	98	83	— 15 %
4	56	180	+ 15 %
5	126	223	+ 77 %
6	172	137	— 20 %
Moyenne			— 1 % ± 30

Animaux traités

Temps de coagulation du sang total *in vitro*
Solution à usage clinique. 0,5 ml/kg, voie veineuse

N° des animaux	*Temps de coagulation initial en secondes*	*Temps de coagulation dans un délai de 1 h. 30 min. après l'administration*	*Pourcentage de variation*
1	160	134	— 16 %
2	160	117	— 27 %
3	156	153	0
4	142	309	+ 117 %
5	159	208	+ 31 %
6	125	154	+ 23 %
7	204	299	+ 46 %
8	180	253	+ 40 %
9	150	194	+ 30 %
10	156	182	+ 17 %
Moyenne			+ 26 ± 12,3

L'examen de ces résultats permet de conclure, compte tenu de la dispersion importante des chiffres recueillis, à une tendance à l'allongement du temps de coagulation chez des Lapins recevant le produit par voie intraveineuse, dans un délai de 90 minutes suivant l'administration.

III. — Détermination du temps de saignement

A) Par section de la queue chez la Souris

Un lot de 36 Souris mâles, de 17 à 20 g, a été utilisé pour cet essai et divisé en deux groupes de 18 animaux.

Les animaux du *premier groupe* ont reçu le produit P_{33} sous forme de la solution à usage clinique à raison de 1 ml par kg, par voie intrapéritonéale.

Groupe n° 1. — **Solution à usage clinique, 1 ml par kg ; voie intrapéritonéale**

Détermination du temps de saignement : 2 *h.* 30 *après l'administration*

N° des animaux	*Temps de saignement*	
	en minutes	*en secondes*
1	0 37	37
2	0 37	37
3	2 07	127
4	0 52	52
5	2 52	172
6	0 52	52
7	2 37	157
8	0 52	52
9	1 07	67
10	0 37	37
11	5 07	307
12	3 37	217
13	0 37	37
14	0 37	37
15	5 37	307
16	0 37	37
17	1 52	112
18	0 37	37
Moyenne		104 ± 22
après élimination des animaux 11, 12 et 15		70 ± 10

Groupe n° 2. — Témoins

N° des animaux	*Temps de saignement*	
	en minutes	*en secondes*
19	1 37	97
20	2 07	127
21	2 37	157
22	2 22	142
23	2 22	142
24	2 07	127
25	1 52	112
26	1 52	112
27	0 67	67
28	3 07	187
29	0 97	97
30	0 97	97
31	2 22	142
32	2 07	127
33	2 22	142
34	0 97	97
35	0 97	97
36	2 07	127
Moyenne		122 ± 7

Les animaux du *second groupe* ont été gardés comme témoins et n'ont reçu aucun traitement.

Le temps de saignement a été déterminé 2 h. 30 après l'administration, par section de l'extrémité de la queue, le sang étant délicatement tamponné au papier-filtre toutes les 15 secondes.

Le temps de saignement a été compté à 7 secondes avant le premier tamponnement, n'ayant pas laissé de traces sur le papier-filtre.

Pendant la détermination et pendant l'heure qui a précédé, les animaux ont été placés à une température de 28° centigrades.

Les résultats sont consignés dans les tableaux ci-contre.

L'examen de ces résultats permet de conclure à un raccourcissement du temps de saignement chez la Souris sous l'action du produit. On doit cependant noter que, chez 3 animaux sur 18, ont été relevés des temps de saignement très supérieurs à ceux observés chez les témoins.

L'élimination des chiffres correspondant à ces animaux permet d'observer entre le lot traité et le lot témoin une différence très significative.

B) Par scarification des oreilles chez le Cobaye

Un lot de 30 Cobayes mâles et femelles, d'un poids moyen de 170 ± 25 g, a été utilisé pour cet essai. La techique utilisée a consisté à effectuer une scarification de l'oreille puis à tamponner avec du papier-fitre toutes les trente secondes jusqu'à disparition de la trace laissée par le tamponnement.

Sur chaque animal a été déterminé un temps de saignement pour l'oreille gauche et pour l'oreille droite et la moyenne pour chaque animal a été effectuée.

Les animaux ont été divisés en trois groupes :

Les animaux du *groupe n°* 1 ont reçu 0,5 ml par kg de la solution à usage clinique, par voie intrapéritonéale. Le temps de saignement a été déterminé 2 heures après l'administration du produit.

Groupe n° 1. — Solution à usage clinique
0,5 ml par kg, voie intrapéritonéale

Détermination 2 heures après l'administration

N° des animaux	*Temps de saignement*				*Moyenne des deux oreilles en secondes*
	Oreille droite		*Oreille gauche*		
	en min.	*en sec.*	*en min.*	*en sec.*	
1	4	240	2 30	150	195
2	2 30	150	3 30	210	180
3	2	120	3 30	210	165
4	2 30	150	1 30	90	120
5	2	120	1 30	90	105
6	1 30	90	2 30	150	120
7	2	120	1 30	90	105
8	2	120	2 30	150	135
9	3 30	210	1	60	135
10	2	120	2	120	120
Moyenne					137 ± 10

Groupe n° 2. — Solution à usage clinique - Bothropase
1 ml par kg, voie intrapéritonéale

Détermination 2 heures après l'administration

N° des animaux	*Temps de saignement*				*Moyenne des deux oreilles en secondes*
	Oreille droite		*Oreille gauche*		
	en min.	*en sec.*	*en min.*	*en sec.*	
11	2 30	150	4 30	270	210
12	1	60	2 30	150	105
13	2	120	1 30	90	105
14	2 30	150	2 30	150	150
15	1	60	3	180	120
16	4	240	2	120	180
17	1 30	90	1 30	90	90
18	1 30	90	1 30	90	90
19	4	240	2	120	180
20	2 30	150	1 30	90	120
Moyenne					135 ± 13,5

Groupe n° 2. — Solution à usage clinique
1 ml par kg, voie intrapéritonéale
Détermination 4 heures après l'administration

N° des animaux	*Temps de saignement*				*Moyenne des deux oreilles en secondes*
	Oreille droite		*Oreille gauche*		
	en min.	*en sec.*	*en min.*	*en sec.*	
11	3	180	1 30	90	135
12	3	180	1 30	90	135
13	3	180	2	120	150
14	3	180	2 30	150	165
15	1 30	90	2	120	105
16	1 30	90	3	180	135
17	2 30	150	2	120	135
18	2	120	1 30	90	105
19	2	120	2	120	120
20	1 30	90	1 30	90	90
Moyenne					127 ± 7,1

Groupe n° 3. — Témoins
1 ml par kg de sérum physiologique

N° des animaux	*Temps de saignement*				*Moyenne des deux oreilles en secondes*
	Oreille droite		*Oreille gauche*		
	en min.	*en sec.*	*en min.*	*en sec.*	
21	4	240	2 30	150	195
22	3 30	210	3	180	195
23	2 30	210	2 30	150	180
24	1 30	90	3	180	135
25	3	180	3	180	180
26	3	180	2 30	150	165
27	3	180	2 30	150	165
28	2 30	150	3 30	210	180
29	3 30	210	3 30	210	210
30	2	120	2	120	120
Moyenne					172 ± 8,6

Temps de saignement chez le cobaye

TABLEAU RÉCAPITULATIF

Produit administré	*Dose*	*Voie*	*Temps de saignement*	
			Délai : 2 h.	*Délai : 4 h.*
P_{33}	0,5 ml (*)	I.P.	137 ± 10	—
P_{33}	1 ml (*)	I.P.	135 ± 13,5	127 ± 7,1
Sérum physiologique (Témoins)	1 ml	I.P.	172 ± 8,6	—

(*) Solution à usage clinique

Les animaux du *groupe n°* 2 ont reçu 1 ml par kg de la solution à usage clinique, par voie intrapéritonéale. Le temps de saignement a été déterminé successivement 2 heures et 4 heures après l'administration du produit.

Les animaux du *groupe n°* 3 servent de témoins aux groupes précédents ; ils ont reçu 1 ml de sérum physiologique par animal, par voie intrapéritonéale.

Les résultats sont consignés dans les tableaux précédents.

L'examen de ces résultats permet de conclure à un net raccourcissement du temps de saignement sous l'action du produit, administré par voie intrapéritonéale. L'activité hémostatique mise en évidence persiste au-delà de la quatrième heure suivant l'administration.

IV. — Appréciation du taux de prothrombine par la détermination du temps de Quick chez le chien

La technique suivante a été employée :

Un échantillon de 10 ml de sang veineux est recueilli sur 0,5 ml de mélange de Wintrobe préalablement desséché ; le plasma est ensuite séparé par centrifugation à 2.000 T.M.

Un volume de 0,10 ml de plasma à tester est prélevé à la

Témoins

Animaux	*Temps de Quick en secondes*
1	8
2	8,4
3	8,5
4	7,8
5	8
Mélange de plasma	7,8
id. Dilution* 1/2	8
id. Dilution 1/3	8
id. Dilution 1/4	9

*Dilution au soluté isotonique de chlorure de sodium.

Détermination du temps de Quick

Solution à usage clinique 0,1 ml par kg, voie intraveineuse

N° et poids des animaux		*Temps initial en secondes*	*30 minutes après administration*	*1 h. 30 après administration*
6	38 kg	7,2	7	7
7	31 —	7,2	7	7,5
8	39 —	7	7,5	8
9	28 —	7,5	8,4	—
10	28 —	8,6	8,2	8,4
11	33 —	8,3	8	—
12	33 —	8,4	Plasma présentant un aspect de gelée ne permettant pas le pipettage	
13	31 —	7,2		
14	28 —	7,8	7,4	7,5

micropipette et soufflé rapidement au fond du tube à hémolyse contenant 0,20 ml de suspension de thromboplastine (Simplastine de Warner Chilcott, lyophilisée) et maintenu au bain-marie à 37°.

La coagulation est surveillée en inclinant régulièrement les tubes.

Dans un premier essai, le temps moyen a été déterminé sur le plasma de 5 animaux témoins ainsi que sur un mélange de plasma pur et dilué.

Dans un second essai, les temps de Quick ont été déterminés sur 9 animaux, avant l'administration du produit, puis les animaux ont reçu le produit sous forme de solution à usage clinique à raison de 0,1 ml par kg de poids corporel, par voie intraveineuse.

Le temps de Quick a été à nouveau déterminé 30 minutes et 90 minutes après l'administration.

L'ensemble des résultats est consigné dans les tableaux ci-contre.

L'examen de ces résultats permet de conclure à l'absence de modifications significatives du taux de Prothrombine chez le Chien, sous l'action du produit, à la dose de 0,1 ml par kg de la solution à usage clinique et dans un délai de 90 minutes.

V. — Recherche des actions d'ordre fonctionnel chez le chien

Trois animaux, anesthésiés au chloralose, ont été utilisés pour cette recherche.

Ont été enregistrés graphiquement :

la pression artérielle carotidienne au kymographe de Ludwig,

la respiration par pneumographe externe,

la motricité duodénale par la méthode du ballonnet,

la vasomotricité rénale appréciée par oncographie,

le débit urinaire par cathétérisme des deux uretères et rhéographie directe (enregistrement direct des gouttes d'urine).

Les essais suivants ont été réalisés :

Chien n° 1. — Chien de race commune, 18 kg.

Administration successive par voie veineuse d'une dose totale de 1 ml puis de 5 ml de la solution pour usage clinique avec un temps de latence de l'ordre de 15 minutes entre les deux injections.

Dans les deux cas il n'a été observé aucune modification sensible des courbes d'enregistrement.

Chien n° 2. — Chien de race commune, 12 kg.

Dans le but d'explorer les principales réactions d'ordre neurovégétatif de l'animal et leur éventuelle modification sous l'action du produit, nous avons procédé :

1° à l'observation des effets de l'adrénaline à raison de 1 µg par kg, de l'acétylcholine à raison de 2 µg par kg, de l'occlusion des carotides communes sans section préalable des nerfs pneumogastriques ;

2° à l'observation des effets du produit injecté par voie intraveineuse à raison de 1 ml et 4 ml par kg de poids corporel (solution à usage clinique) ;

3° à la répétition des trois tests décrits ci-dessus (injection d'adrénaline et d'acétylcholine aux mêmes doses et occlusion des carotides) ;

4° à l'observation des effets du produit, injecté à la dose de 0,5 ml par kg de la solution à usage clinique, après un repos total d'environ une heure ;

5° à la répétition: des trois tests décrits en 1° et 3°.

Les résultats ont été les suivants :

1° A l'injection de 1 µg par kg d'adrénaline, l'animal répond par une hypertension de l'ordre de 5 cm de mercure, s'accompagnant d'une légère dépression respiratoire (sans apnée adrénalinique), d'une inhibition très courte de la motricité duodénale, d'une chute très réduite de la courbe d'oncographie rénale et d'une réduction très discrète de la diurèse.

A l'injection de 2 µg par kg d'acéthylcholine, l'animal répond par une hypotension de 4 cm de mercure, sans modification notable de la ventilation, par une hypermotricité duodénale très discrète et transitoire, par une chute passive de la courbe d'oncographie rénale et par une reprise de la diurèse faisant suite à un ralentissement transitoire.

L'occlusion des carotides primitives se traduit par une hypertension de 4 cm de mercure environ, persistant pendant la durée de l'occlusion et suivie d'une hypotension réactionnelle.

2° L'injection intraveineuse de 0,1 ml par kg de la solution à usage clinique n'entraîne aucune modification notable des tracés.

L'injection intraveineuse de 4 ml par kg de la même solution effectuée 30 minutes après la première n'entraîne pas de modifications de la pression artérielle, se traduit par une tendance discrète à l'hypoventilation ne persistant pas au-delà de 5 minutes, déclenche une phase d'hypermotricité duodénale. Les courbes de vasomotricité rénale et de diurèse ne sont pas interprétables pendant cette période (enregistrement défectueux).

3° La répétition des trois tests décrits en début d'expérience n'a pas permis d'observer des réactions à l'injection d'adrénaline et d'acétylcholine, ainsi qu'à l'occlusion des carotides, différentes de celles observées avant l'administration du produit.

4° Après une heure de repos total, il a été à nouveau observé une phase d'hypermotricité duodénale.

Une nouvelle injection intraveineuse de la solution, à raison de 0,5 ml par kg, a été suivie par une nouvelle phase d'hypermotricité intestinale, ce qui constitue la seule modification pouvant éventuellement être attribuée à l'activité du produit.

5° La répétition des injections d'adrénaline et d'acétylcholine, ainsi que l'occlusion des carotides, entraîne des réponses atténuées par rapport à celles observées en début d'expérience. Cette atténuation paraît due plus à une variation spontanée de la réactivité de l'animal qu'à une action modificatrice du produit dans la mesure où une dose dix fois plus forte du même produit (voir 2) a été inactive.

Chien n° 3. — Chien de race commune, 12 kg.

Cet animal a servi à explorer les effets de l'excitation liminaire du bout périphérique du nerf pneumogastrique sectionné, les effets de l'adrénaline et de l'acétylcholine et les éventuelles modifications des réactions observées après l'administration du produit P_{33}.

1° Effets de l'excitation du bout périphérique du pneumogastrique. — Après plusieurs essais entraînant l'arrêt cardiaque, les valeurs de 6 volts, 200 périodes, 0,2 milliseconde ont été retenues comme caractéristiques liminaires du seuil d'excitation entraînant la bradycardie sans arrêt cardiaque.

L'injection intraveineuse de 1 µg/kg d'adrénaline entraîne une hypotension légère. Une dose de 2 µg/kg entraîne une hyper-

tension de l'ordre de 7 cm de mercure, qui s'accompagne d'hypoventilation, de vasoconstriction rénale et d'inhibition momentanée de la motricité duodénale et de la diurèse.

L'injection intraveineuse de 2 µg par kg d'acétylcholine entraîne une hypotension de l'ordre de 7 cm de mercure.

2° L'injection de 0,5 ml par kg du produit P_{33}, sous forme de solution à usage clinique, est suivie d'une hypertension très légère (1 cm de mercure) et d'une hyperventilation accusée persistant cinq minutes environ ; elle est concomitante d'un ralentissement de la diurèse.

Il est à noter que, contrairement à l'essai précédent, il n'a pas été observé d'hyperactivité motrice duodénale.

3° La répétition des tests indiqués en 1° montre que les effets de l'excitation liminaire du vague sont restés les mêmes, que l'adrénaline est légèrement moins active (5 cm de mercure pour 2 µg/kg) et que les réactions à 2 µg d'acétylcholine sont restées inchangées.

***

Des essais concernant les éventuelles modifications fonctionnelles entraînées chez le Chien par l'administration du produit, les conclusions suivantes peuvent être tirées :

1° Administré par voie veineuse, sous forme de solution à usage clinique et aux doses de 0,05 ml/kg, 0,1 ml/kg, 0,25 ml/kg, 0,5 ml/kg, 4 ml/kg et 6 ml/kg, réparties sur trois expériences, le produit n'a pas déterminé de modifications caractéristiques et reproductibles de la pression artérielle, de la respiration, de la motricité intestinale, de la vasomotricité rénale et de la diurèse.

Un animal sur trois a manifesté, à la suite de l'injection d'une forte dose de 4 ml par kg de la solution à usage clinique, une hypermotricité intestinale.

Le caractère fortuit de cette modification ne peut être totalement écarté dans la mesure où des phases similaires d'hypermotricité s'observent avec la même intensité une heure trente environ après la première administration, soit spontanément, soit à la suite d'une nouvelle injection de 0,5 ml/kg.

Chez un animal sur trois, il a été observé, à la suite de l'injection intraveineuse de 6 ml par kg de la solution à usage clinique, une très légère hypertension artérielle, une hyperventilation, un espacement de la diurèse.

2° Du point de vue neurovégétatif, le produit n'exerce pas d'action adrénolytique, ni d'action parasympatholitique. Il ne modifie pas les effets de l'excitation du bout périphérique du vague, ce qui écarte une action modificatrice ganglionnaire ; enfin, il n'exerce pas d'action dépressive sur les réflexes neurovégétatifs (les réflexes de barosensibilité sinocarotidienne étant choisis comme test).

CONCLUSIONS

Des recherches toxicologiques concernant le P_{33}, défini comme la fraction enzymatique coagulante du venin de Bothrops Jararaca, les conclusions suivantes peuvent être tirées :

1° En ce qui concerne la toxicité aiguë chez la souris, les doses suivantes, exprimées en poids, de matière première ont été déterminées :

Par voie veineuse :

Dose maxima tolérée	1,5	mg/kg.
Dose léthale 50 %	*3,325*	*mg/kg.*
Dose léthale 100 %	5	mg/kg.

Par voie sous-cutanée :

Dose maxima tolérée	5	mg/kg.
Dose léthale 50 %	*15,65*	*mg/kg.*
Dose léthale 100 %	25	mg/kg.

Les DL_{50} étant déterminées par la méthode de Behrens et Kärber, ces doses sont très élevées en regard des doses faibles de l'ordre de la dizaine de mg préconisées en clinique pour des préparations similaires.

2° L'administration de P_{33} par voie sous-cutanée, à des rats mâles pendant 92 jours, aux doses totales de 1,817 mg et 0,363 mg par kilogramme de poids corporel, n'entraîne ni l'apparition de symptômes de toxicité, ni l'installation de lésions des principaux organes.

3° L'administration de P_{33} à des lapins pendant 20 jours, par voie intramusculaire, aux doses correspondant respective-

ment à 74,64 µg et 186,6 µg par kg de produit de base (dose totale pour l'essai), n'entraîne ni la manifestation de symptômes de toxicité ni de lésions d'intolérance locale.

4° Le P_{33} est dépourvu d'activité anaphylactogène.

En conclusion, le P_{33}, sous sa forme injectable, peut être considéré comme peu toxique dans les conditions expérimentales indiquées.

De l'ensemble des essais pharmacodynamiques concernant le P_{33}, les conclusions peuvent être tirées :

1° Le P_{33} exerce une activité coagulante par addition *in vitro* à du sang total oxalaté de cheval. Le temps de coagulation est inversement proportionnel au logarithme des doses.

2° Après injection du P_{33}, par voie intrapéritonéale, au rat, à la dose de 2 ml par kg de la solution à usage clinique, on constate un abaissement du temps de coagulation du sang. Cette activité s'installe avec un temps de latence de 30 minutes et persiste au-delà de 6 heures.

Cette activité n'est pas retrouvée chez les lapins recevant 0,5 ml par kg de la même solution par voie veineuse, qui présentent dans un délai de 90 minutes une tendance à l'allongement du temps de coagulation du sang total.

3° L'administration du P_{33} chez le chien, par voie intraveineuse, ne modifie pas le taux de Prothrombine apprécié par la mesure du temps de Quick.

4° Le P_{33} abrège le temps de saignement mesuré après section de la queue chez la souris.

On doit cependant noter que, sur trois animaux du lot traités (sur un total de 18 souris), il a été relevé des temps de saignement très nettement supérieurs aux temps mesurés chez les animaux témoins. L'élimination de ces chiffres permet de conférer un caractère très significatif à la différence observée entre les animaux traités et les animaux témoins.

Une activité hémostatique de même ordre est observée chez des cobayes par la mesure du temps de saignement, après scarification des oreilles et notation du temps moyen pour chaque animal.

5° Du point de vue fonctionnel, l'administration d'une gradation de doses allant de 0,5 ml à 6 ml par kg de la solution à usage clinique du P_{33}, n'entraîne pas de modifications de la pression artérielle, de la respiration, de la motricité intestinale, de la vasomotricité rénale, ni de la diurèse, sauf à la plus forte dose où il a été observé, chez un chien sur trois, une légère hypertension, une hyperventilation et une diminution de la diurèse.

Il n'a pas été observé, d'autre part, de modifications des réactions neurovégétatives.

L'ensemble des propriétés pharmacodynamiques du P_{33}, et particulièrement l'activité hémostatique, jointe à la discrétion des effets secondaires, permet d'envisager d'intéressantes applications cliniques.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

J. Roche.

Le Doyen
de la Faculté de Médecine,
G. Cordier.

Le Président du Jury,
J. Cheymol.

BIBLIOGRAPHIE

1. Arthus (M.). — Les Anavenins. *Journal de Physiol. et Pathol. Gen.*, 1930, 29, p. 135.

2. Belfanti (S.). — *La lisocitina come veleno dell'organismo. Communic. Accad. fis.* Lo Sperimentale, V, p. 33, Firenze, 1925. — I veleni animali nella Biologia. Relaz VI Riun. Soc. Ital. Bioch. Bologna, 1926.

3. Boquet (P.). — Venins de serpents et antivenins. Paris. Flammarion, 1947.

4. Brazil (V.), Vellard (I.). — Contribuçao ao estudo do veneno ophidico, 1925. 1° *Commun. Soc. Biol. di S. Paulo* (Fracassini).

5. Calmette. — Les venins, les animaux venimeux et la sérothérapie antivenimeuse. Masson, Paris, 1909. — et Coll. : Ann. Istit. Pasteur XXI Comp. rend. CXLVI, Paris, 1911.

6. Delezenne. — C.R. Accad. de Sciences, CXXXV, Paris, 1909 ; CLII, 1911 ; CLV, 1911. — Morrel : *Bull. Soc. Chim. Paris*, C.R. Ann. Istit. Pasteur, CLXVIII, Paris, 1919 (da Fracassini).

7. De Nicola (P.) et Cappelletti (G.-A.). et Coll. — I processi di coagulazione e i veleni degli ofidi. Edizioni di Haematologica, Pavia, 1959.

8. Do Hamaral (A.) e Von Klobusitzsky. — Hemaglutininas naturais no sangue de serpentes et de outros animais pecilotermos. Mem. Inst. Butantan VII, 1935 Vaz, e Pereira.

9. Fontana. — Sui veleni e loro azione nei corpi animali, 1781 Firenze.

10. Fracassini (T.). — Veleni animali attivi ed animali avvelenatori. Ed. Scientifica, Prato, 1934.

11. Giovannoli (F.) e Ghezzi (M.). — Sul veleno dei serpenti in terapia umana. *Studi Fac. Medica Senese*, XIV, p. 22, 1946.

12. Hanut (C.-J.). — Recherches préliminaires sur l'emploi des solutions diluées de venin de Bothrops atrox comme hémostatique. *C.R.S.B.*, 1936, *vol.* 123, *p.* 1232, Vaz e Pereira.

13. Horwitt (M.-K.). — *Science*, p. 92-89, 1940, Bergamini.

14. Leriche (R.). — Progrès dans la chirurgie vasculaire. *Lyon Chir.*, 1-5 e 2-134, 1948.

15. Mannozzi-Torini. — *Boll Soc. Ist. Biol. Sper.*, vol. 17, p. 153, 1942.

16. Mauro (C.). — *Sur l'action coagulante du venin de Bothrops Jararaca, Giorn. Ital. di Chirurgica*, 1949, 5, p. 488.

17. Meyer (K.). — *Physiol.* - Reviews, 1947, 27, p. 335, Bergamini. gamini).

18. Pereira (J.). — Sobre a causa da açao anticoagulante da soro sanguineo de certas serpentes. *Rev. de Biol. e Hg. S. Paulo,* vol. 1, pag. 1, 1927, Vaz e Pereira.

19. Pereira (J.). — Modificaçoes do poder coagulante do soro sanguineo par injeçoes repetidas de substancias coagulante e anticoagulante de origem animal. *Rev. de Biol. e Hyg.*, vol. 1, p. 3, 1927 (*ibid.*).

20. Trejos (A.). — *Rev. Brasil. Biol.*, 1947, 7, p. 495, Bergamini. mini).

21. Tarabini-Castellani. — *Arch. Ital. Med. Sper.*, vol. 2, p. 969, 1938, Bergamini.

22. Vaz e Pereira (A.). — Hemocoagulaçao pelo veneno botropico. *Bol. San. Sao Lucas Comunic.*, 1940, p. 3.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 19

ETUDE TOXICOLOGIQUE 24

ETUDE PHARMACO-DYNAMIQUE 47

CONCLUSIONS 69

BIBLIOGRAPHIE 70

Imp. Bosc Frères, Lyon - Dépôt légal n° 3486 - 1er trimestre 1965